

Z Zakładu Farmakologii Wydziału Weterynaryjnego SGGW w Warszawie  
Kierownik: prof. dr Michał Gedroyc

Aleksander DZIŻYŃSKI i Michał GEDROYĆ

**Substancje roślinne i inne środki działające antybiotycznie  
na rzęsistka bydłęcego**

Растительные и иные вещества действующие антибиотически  
на трихомонады крупного рогатого скота

Plant substances and other medicines as antibiotics against  
*Trichomonas foetus*

Dotychczasowe próby rozwiązania problemu leczenia schorzeń powodowanych przez rzęsistka *Trichomonas foetus* Riedmüller szły w głównej mierze w kierunku zastosowania istniejących leków, w pierwszym rzędzie środków chemoterapeutycznych, do zwalczania tego pasożyta.

Jak dotąd, środki i metody leczenia trichomonazy — włącznie z metodą serologicznego leczenia — nie okazały się w dostatecznym stopniu skuteczne i w dalszym ciągu prowadzone są poszukiwania nad sposobami zwalczania plagi rzęsistka, zwłaszcza u buhajów.

W problematyce powyższego tematu na uwagę między innymi zasługuje fakt, że szereg antybiotyków pochodzenia roślinnego posiada nie tylko własności bakteriobójcze lub bakteriostatyczne, ale również i pierwotniakobójcze. Istnieją zatem niewątpliwie rośliny, czy substancje pochodzenia roślinnego, które działają zabójczo także na rzęsistka — jak np. chinina na *Plasmodium*.

Kierując się powyższymi przesłankami postawiliśmy sobie za zadanie określić wrażliwość rzęsistka bydłęcego na działanie soków, wyciągów i przetworów niektórych gatunków roślin, oraz w dalszym, kolejnym etapie pracy ustalić przydatność w lecznictwie *in vivo* tych substancji, które wykazały największą aktywność antybiotyczną

w działaniu na rzęsistka *in vitro*. Nawiązując ponadto do prób podejmowanych przez licznych badaczy, mających na celu uzyskanie szczepionek, względnie wysokowartościowej surowicy przeciwrzęsistkowej, uznaliśmy za celowe rozszerzyć zakres naszych badań w kierunku zebrania i uzupełnienia danych odnośnie zagadnienia seroterapii trichomonazy. W szczególności chcieliśmy stwierdzić, czy niektóre wyciągi z tkanek i gruczołów zwierzęcych, jak śluzówka macicy, przewodu pokarmowego, gruczoły takie jak trzustka, wątroba, gruczoły ślinowe i inne, nie zawierają ciał czynnych, działających cytostatycznie lub litycznie na rzęsistka.

Staraliśmy się także ustalić, jakie działanie na rzęsistka mogą wykazać wyciągi z tkanek i gruczołów zwierząt niższych (zmiennocieplnych) i krew tych zwierząt — surowica i hemolizaty.

Przy badaniu *in vitro* wrażliwości rzęsistka na działanie substancji pochodzenia roślinnego (soków, wyciągów i przetworów) posługiwaliśmy się następującą metodą:

A. Do kropli gęstej zawiesiny rzęsistka, o żywym ruchu, umieszczonej na szkiełku podstawowym dodawano 1 kroplę badanej substancji roślinnej (soku, wyciągu lub przetworu itp.), mieszano krople końcem pipety pasterowskiej i obserwowano rzęsistka pod mikroskopem najpierw pod małym powiększeniem 100-krotnym, a następnie po nakryciu kropli szkiełkiem nakrywkowym przy powiększeniu 1000-krotnym.

B. Obok kropli gęstej zawiesiny rzęsistka, nakrytej szkiełkiem nakrywkowym, umieszczano kroplę badanej substancji w ten sposób, aby obie krople zetknęły się ze sobą i oglądano przy powiększeniu 1000-krotnym reakcję rzęsistka na płyn dyfundujący w miejscu zetknięcia się kropli, a następnie na przeciwległym brzegu szkiełka nakrywkowego.

C. Do 1 ml gęstej, wolnej od bakterii kultury rzęsistka dodawano 1 ml badanego płynu, po zmieszaniu obu płynów przez kilkakrotnie wstrząsanie probówki, umieszczano probówkę z mieszaniną płynów w termostacie na 10 minut w cieplecie optymalnej dla rzęsistka, tj. 37°C, a następnie kroplę pobraną z probówki oglądano pod mikroskopem w celu uchwycenia momentu zaniku ruchu i śmierci lub ew. lizy, względnie powstawania aglomeratów rzęsistka. Po upływie 24 godzin ponownie obserwowano mikroskopowo zawiesinę rzęsistka.

Soki roślinne, którymi działano na rzęsistka, były przygotowywane *ex tempore* przed eksperymentem przez rozcieranie (jak np. sok z cebuli), wyciskanie itp.



Do doświadczeń używano wyłącznie wodnych wyciągów roślinnych, przygotowywanych wg przepisów Farmakopei Polskiej, względnie w stosunku 1 część surowca na 5 części wody.

Sprawdzianem aktywności antybiotycznej badanej substancji, tj. toksyczności dla rzęsistka są zmiany morfologiczne i fizjopatologiczne, którymi odpowiada rzęsistek na bodziec toksyczny. Natężenie tych zmian jest uzależnione nie tylko od własności toksycznych danej substancji, ale także od stężenia, tj. dawki, oraz czasu, w ciągu którego działa dana substancja na rzęsistka.

Należy zauważyć, że brak natychmiastowych zaburzeń w czynnościach fizjologicznych komórki rzęsistka po zadziałaniu na nią substancji roślinnej lub chemicznej — nie zawsze jest dowodem braku antybiotycznych właściwości takiej substancji wobec rzęsistka, ponieważ trujące działanie może ewentualnie występować dopiero po upływie dłuższego czasu kontaktowania rzęsistka z badaną substancją, co zresztą odnosi się do wielu innych środków farmakologicznych.

W zależności od rodzaju substancji, która działa trująco na rzęsistka, objawom fizjopatologicznym, pojawiającym się w następstwie zatrucia, mogą towarzyszyć również zmiany morfologiczne komórki rzęsistka występujące przyzyciowo, jak: tworzenie się form kulistych, zniekształcenie komórki, która przybiera postać pomarszczonej kulki, pojawienie się pęcherzyków na powierzchni komórki jako świadectwo zachodzących procesów litycznych itp. W momencie śmierci postać i struktura komórki rzęsistka może pozostać także bez widocznych zmian, albo może nastąpić rozpad ziarnisty komórki w zależności od własności trujących substancji użytej do doświadczenia.

Do antybiotyków przeciwrzęsistkowych — oczywiście w ramach doświadczeń przez nas przeprowadzonych *in vitro* — zaliczyliśmy wszystkie te ciała, które powodowały bezwarunkową śmierć rzęsistka w granicach czasu od 1-ej do 30 minut.

Mniejszy lub większy stopień aktywności antybiotycznej danej substancji w stosunku do rzęsistka był określany przez nas proporcjonalnie do okresu czasu, w ciągu którego następowała śmierć wszystkich rzęsistków (brak jakiegokolwiek ruchu) w oglądanym preparacie mikroskopowym.

Te związki, które wykazały słabsze działanie cytostatyczne lub rzęsistkobójcze, na skutek którego np. ginęła tylko część rzęsistków lub dopiero po upływie dłuższego czasu, a mianowicie w granicach

od 1-ej do 24 godzin — zostały przez nas wyeliminowane z toku zamierzonych dalszych badań, mających na celu oznaczanie *in vivo* wartości leczniczej antybiotyków przeciwrzęsistkowych.

W naszych badaniach przeprowadziliśmy celowo również obserwacje dotyczące wrażliwości wolnożyjących pierwotniaków *Spirostomum ambiguum* L. i *Paramaecium caudatum* L. na działanie niektórych związków antybiotycznych, w celu porównania wrażliwości tych pierwotniaków z wrażliwością rzęsistka, jako pierwotniaka chorobotwórczego.

Przebieg i wyniki badań nad wrażliwością rzęsistka na działanie substancji roślinnych przedstawiają się następująco:

Sok cebuli (*Allium cepa* L.), świeżo przygotowany z utartej cebuli (pH ca 5,5), dodany do gęstej kultury rzęsistka w stosunku 1 : 1 powoduje śmierć wszystkich rzęsistków oglądanych w preparacie mikroskopowym w ciągu 1—3 minut. Według Aleksiejewa (1) sok cebuli zabija rzęsistka ludzkiego — *Trichomonas vaginalis* Donné już w pierwszej sekundzie. Po zmieszaniu soku z hodowlą rzęsistka ustaje nasamprzód ruch postępowy rzęsistka, pojawiają się ruchy obrotowe naokoło tylnego końca komórki, niektóre rzęsistki wykonywują ruchy wahadłowe na miejscu, z kolei niektóre dojrzałe formy rzęsistka przybierają kształt kulisty, a na obwodzie tych kulistych form występują ziarenka (6—9), pęcherzyki, protoplazma ulega zmianom strukturalnym (koagulacji), przybiera postać gruboziarnistą.

Przetworzony i przefiltrowany sok cebuli wykazuje nieco słabsze działanie antybiotyczne niż sok surowy. Rzęsistki zostają zabite w ciągu 4—6 minut.

Zaobserwowane zmiany fizjopatologiczne w następstwie zetknięcia się rzęsistka z substancją trującą przejawiają się m. in. przede wszystkim przez występowanie zaburzeń kinetycznych takich, jak; przyśpieszenie lub zanik ruchu postępowego, pojawienie się ruchów obrotowych względnie ruchów o charakterze wahadłowym, osłabienie a następnie zanik ruchów błony falującej i wici (flagella). Tu należy podkreślić, że młode formy rzęsistka zachowują zdolność ruchu w warunkach dla siebie niesprzyjających znacznie dłużej, aniżeli formy dojrzałe (większa odporność i żywotność).

W związku z zagadnieniem zastosowania soku cebuli do leczenia zarażeń rzęsistkowych przeprowadziliśmy badania nad toksycznością przegotowanego soku cebuli na myszach, królikach i psach i stwier-



dziliśmy, że jest on praktycznie nietoksyczny dla wspomnianych zwierząt.

Podany podskórnie (myszom w dawce 0,5 ml., królikom i psom a 2 ml) nie wywołuje stanów zapalnych ani nie drażni tkanek.

W doświadczeniach przeprowadzonych na 2 psach dawka 40 ml jałowego soku cebuli, wprowadzona dosercowo każdemu z psów o wadze 14 kg i 12 kg, nie wywołała u wspomnianych psów poważniejszych zaburzeń ani objawów zatrucia.

Próba leczenia trichomonazy *in vivo* zagotowanym sokiem cebuli przeprowadzona na kilku przypadkach przez Klinikę Położniczą Wydz. Wet. SGGW u 2 krów dała wyniki pomyślne, tak mała jednak liczba przypadków nie pozwala jeszcze na wyciągnięcie jakichkolwiek pewnych wniosków co do wartości leczniczej tego środka.

Sok czosnku (*Allium sativum* L.) wykazuje *in vitro* bardzo energiczne działanie antybiotyczne na kulturę rzęsistka. Pod wpływem działania soku czosnku hodowla ginie w czasie od 1 do 3 minut. Część pasożytów zostaje zabita natychmiast po zadziałaniu soku, przy czym struktura morfologiczna właściwa rzęsistkowi zostaje zachowana, część rzęsistków wykonuje ruchy wahadłowe, przybiera kształt kulisty lub trójkątny. Wewnątrz kulistych postaci rzęsistka daje się zauważyć ruch protoplazmy, struktura wewnętrzna się zaciera, tworzą się drobne ziarnistości, po upływie około 3 minut wszelki ruch zanika.

Podobnie jak cebula i czosnek działają na rzęsistka zabójczo wyciągi wodne:

nagietka lekarskiego (*Calendula officinalis* L.),

jaskra jadowitego (*Ranunculus sceleratus* L.),

sok liści selera (*Apium graveolens* L.),

wyciąg wodny muchomora czerwonego (*Amanita muscaria* L.) Fries,

wyciąg wodny strączków i nasion żarnowca miotlastego (*Sarothamnus scoparius* L.) Wilm.

majeranku (*Origanum majorana* L.),

jaskółczego ziela (*Chelidonium majus* L.),

dicumarol — sodium oraz

weratryna.

Wymienione wyżej soki i wyciągi roślinne, jak również dikumarol (otrzymany także syntetycznie), zabijają rzęsistka w przeciągu jednej do kilkunastu minut.

Działanie antybiotyczne, ale w stopniu słabszym, wykazują także w stosunku do rzęsistka takie rośliny jak:

pietruszka zwyczajna (*Petroselinum sativum* Hoffm.),  
pomidor (*Solanum lycopersicum* L.),  
macierzanka piaskowa (*Thymus serpyllum* L.),  
rumianek (*Matricaria chamomilla* L.),  
tasznik pospolity (*Capsella bursa pastoris* L.),  
bylica piołun (*Artemisia absinthium* L.),  
chmiel zwyczajny (*Humulus lupulus* L.),  
burak jadalny (*Beta esculenta* L.),  
tuja (*Thuja occidentalis* L.),  
pieprznik jadalny (*Cantharellus cibarius* Fr.),  
czerecha zwyczajna (*Prunus padus* L.),  
jarzębina (*Sorbus aucuparia* L.),  
borówka czernica (*Vaccinium myrtillus* L.) i  
dynia zwyczajna (*Cucurbita pepo* L.).

Reakcja rzęsistka na działanie toksyczne wyciągów i soków wyżej wymienionych roślin (jak zresztą i innych substancji, o których dalej będzie mowa) nie jest jednakowa. W zespole objawów fizjopatologicznych wyróżniających się m. in. zaburzeniami kinetycznymi (ruchy rotacyjne, manewrowe, wahadłowe) na plan pierwszy wysuwają się takie objawy, jak zwolnienie lub zahamowanie ruchu postępowego rzęsistka aż do unieruchomienia.

Właściwość hamowania lub zwalniania ruchu postępowego rzęsistka posiada większość badanych przez nas roślin i substancji.

Niektóre tylko rośliny, jak np. wyciąg ze strączków i nasion żarnowca (*Sarothamnus scoparius* L. (W i m m), jaskółczego ziela (*Chelidonium maius* L.), muchomora czerwonego (*Amanita muscaria* L. (F r i e s), wyciąg skórki dyni (*Cucurbita pepo* L.), piołun (*Artemisia absinthium* L.), chinina, arekolina i chlorek karbaminoilcholina (Lentin), powodują przyspieszenie ruchu postępowego.

Spśród wyżej wymienionych substancji najsilniejsze działanie, przyspieszające ruch rzęsistka, posiada wyciąg ze strączków i nasion żarnowca; nie wiadomo tylko, któremu spośród związków zawartych w żarnowcu należy przypisać pobudzające działanie na rzęsistka. Żarnowiec jak wiadomo zawiera 0,2% sparteiny, genisteinę, saro-tamninę, skoparynę, alkaloid cytizinę i in., których na razie nie mieliśmy do dyspozycji.

Ta właściwość przyspieszania ruchu rzęsistka przez wyciąg żarnowca i podobnie działające związki może być praktycznie wykorzy-



stana w diagnozowaniu infekcji rzęśistkowych np. w przypadkach słabej ich ruchliwości i małej ilości pasożytów w badanym materiale, zawierającym przy tym obfitą florę bakteryjną, ropę itp. składniki.

Dodanie do kropli badanego materiału kropli wyciągu z żarnowca pobudza nieliczne, trudne do zauważenia w preparacie mikroskopowym, rzęśistki do ruchu i ułatwia wykrycie pasożyta.

Większość badanych przez nas roślin i związków powoduje występowanie zmian morfologicznych komórek rzęśistka występujących zewnątrz lub wewnątrz komórek. Podobne zmiany są obserwowane również u *Paramaecium* i *Spirostomum*. Zmiany takie występują natychmiast lub po upływie pewnego czasu, przyżyciowo lub po śmierci pasożyta w zależności od swoistych właściwości substancji działającej na komórkę rzęśistka.

Pod wpływem bodźca toksycznego rzęśistek przybiera przeważnie postać kulistą; niekiedy postać gruszkowatą, właściwa rzęśistkowi, zmienia się w pryzmatyczną; niektóre ciała powodują koagulację protoplazmy i kurczenie się komórki, która ulega wskutek zniszczenia pellikuli zniekształceniu i rozpadowi tak, że z komórki pozostaje tylko grudka ziarnistości (rozpad lityczny).

Stwierdziliśmy, że pod wpływem malleiny, która powoduje śmierć piorunującą rzęśistka, komórki rzęśistka ulegają znacznemu wydłużeniu i przybierają kształt wrzecionowaty, podobny do kształtu ziaren owsa, przy czym na powierzchni komórek pojawiają się pęcherzyki. W związku z tym spostrzeżeniem na uwagę zasługuje fakt, że malleina nie wywołuje zmiany kształtu komórek u *Paramaecium* i *Spirostomum*, jakkolwiek działa także jako gwałtowna trucizna na powyższe pierwotniaki.

Wyrażnie zaznaczonego działania litycznego na rzęśistka, z wyjątkiem omówionych wyżej przypadków rozpadu ziarnistego, nie wykazuje żadna z badanych przez nas roślin.

Jak już wspomnieliśmy — obok naszych badań nad rzęśistkiem — przeprowadziliśmy obserwacje porównawcze nad działaniem wyżej wymienionych roślin, surowic i innych związków na pierwotniaki wolnożyjące: *Spirostomum ambiguum* L. i *Paramaecium caudatum* L. Celem tych obserwacji było wyjaśnienie zagadnienia, czy jedna i ta sama substancja toksyczna wywołuje identyczną reakcję fizjopatologiczną oraz identyczne zmiany morfologiczne komórek pierwotniaczych należących do różnych gatunków, czy też zmiany te są różne jakościowo i ilościowo.

W toku tych badań stwierdziliśmy szereg różnic w zachowaniu i reakcji użytych przez nas pierwotniaków w stosunku do jednego i tego samego ciała trującego. I tak np. mieliśmy możność zaobserwować nader ciekawe zjawisko rozpadu ziarnistego *Spirostomum* przebiegające jak eksplozja w ciągu kilku sekund pod wpływem działania wyciągu wodnego muchomora plamistego (*Amanita pantherina* D. C.). Ten sam wyciąg wodny muchomora plamistego powoduje śmierć pantofelka w przeciągu 1—2 minut, nie wywołuje jednak u niego, podobnie jak u rzęśistka, rozpadu ziarnistego.

Na wyciąg wodny muchomora czerwonego *Spirostomum* reaguje zwolnieniem ruchu postępowego, pojawia się ruch obrotowy naokoło długiej osi ciała, a następnie ruchy manewrowe, na końcu ciała tworzą się wypustki w rodzaju nibynózek ameby i wreszcie po 2—3 minutach następuje rozpad ziarnisty pierwotniaka.

Rozpad ziarnisty *Spirostomum* w ciągu kilkunastu sekund wywołuje także sok cebuli i czosnku (1—2 minut); wskutek działania soku ruchy postępowe stają się przyśpieszone, pierwotniaki poruszają się nagłymi skokami, następnie pojawia się ruch obrotowy naokoło długiej osi ciała, najpierw lewo — a następnie prawostronny, przerywany nagłymi skurczami ciała; w czasie skurczu następuje rozpad ziarnisty.

W podobny sposób reaguje *Spirostomum* na zatrucie dikumarem i na szereg innych substancji. Kodeina zaś działa tak silnie, że rozrywa jak materiał wybuchowy komórkę *Spirostomum* w ten sposób, że strzępy komórki zostają rozrzucone.

Doświadczenia, przeprowadzone przez nas z surowicami zwierząt ciepłokrwistych (krowy, konia, świni, kota oraz ptaków), potwierdziły na ogół spostrzeżenia Morgan'a (2); Robertson'a (3) i innych, którzy wykazali, iż świeże surowice zwierząt ciepłokrwistych działają zabójczo i litycznie na rzęśistka w różnych rozcieńczeniach: np. surowica królika w rozcieńczeniach 1 : 12, 1 : 16 i 1 : 24.

Rozcieńczone surowice zwierząt ciepłokrwistych (dodane do kultury rzęśistka w stosunku 1 : 1) działają cytostatycznie na rzęśistka, a więc powodują m. in. tworzenie się aglomeratów rzęśistka i osłabienie ruchu postępowego; brak jest natomiast natychmiastowego działania litycznego, względnie rzęśistkobójczego.

Badania Gedroycia (4) nad otrzymaniem surowic przeciw wolnożyjącym pierwotniakom wykazały, że można otrzymać bardzo silnie działające surowice przeciwprzywrotnicze, o ile użyje się antygenu w większych ilościach. Prawdopodobnie więc otrzymane



przez Morgan'a surowice lityczne o tak słabym mianie wymagają obfitej hodowli antygeny do szczepień.

Stwierdziliśmy, że ślina ludzka jest silnie działającym środkiem rząsistkobójczym, niszczy bowiem rząsistka w przeciągu 1—3 minut; podobne działanie ma również żółć rozmaitych zwierząt: ryb, ptaków i ssaków, która zabija rząsistka w ciągu kilku sekund.

Badania, przeprowadzone przez nas nad działaniem na rząsistka hemolizatów zwierząt ciepłokrwistych oraz wyciągów ze śluzówki jelita i macicy, nie potwierdziły, jak dotychczas, naszych przypuszczeń co do obecności w krwinkach oraz komórkach nabłonka śluzówki ciał odpornościowych lub innych, działających antybiotycznie na rząsistka.

W toku naszych badań nad własnościami aglutynacyjnymi surowic ptaków stwierdziliśmy, że surowice kaczek, indyków, kur, wróbl i gawronów mają słabo zaznaczoną zdolność aglutynowania rząsistka w ciągu 1—2 minut, rząsistki jednak pozostają żywe (zachowują ruch) w ciągu dłuższego czasu (10—20 minut lub nawet dłużej).

Zaobserwowaliśmy przy tym występowanie zjawiska pewnego rodzaju synergizmu w działaniu rząsistkobójczym surowic i niektórych wyciągów roślin.

Jeżeli np. do kropli surowicy indyka lub kaczki zmieszanej z kroplą kultury rząsistka dodamy kroplę wyciągu wodnego piołunu względnie żarnowca, rząsistek ginie w ciągu 1 minuty; sama surowica zabija rząsistka dopiero po 10—15 minutach, piołun zaś po upływie ca 10 min.

W doświadczeniach z surowicą królików, które otrzymały czterokrotnie podskórnie 1 ml gęstej kultury rząsistka w odstępach co 4 dni, zaobserwowaliśmy występowanie aglutynacji przejściowej; po zmieszaniu na szkiełku przedmiotowym kropli kultury rząsistka z kroplą surowicy królika aglutynacja pojawiła się w ciągu 1 minuty i utrzymywała się przez szereg godzin.

Dla zabezpieczenia przed wysychaniem szkiełko z kroplą umieszczone było w komorze wilgotnej i pozostawione w termostacie w temperaturze 37°C. Po upływie 24 godzin obserwowaliśmy brak aglomeratów i normalny ruch rząsistków. Ten sam efekt końcowy uzyskuje się po zmieszaniu w próbówce 1 ml kultury rząsistka z 1 ml surowicy królika. Aglutynację przejściową rząsistka wywołuje również normalna surowica gołębia.

## Działanie krwi i surowic zwierząt niższych

W związku z powyższymi wynikami naszych obserwacji, które miały zresztą na celu jedynie skontrolowanie, względnie uzupełnienie, spostrzeżeń podanych w piśmiennictwie — przystąpiliśmy do badań nad działaniem na rzęsistka surowic, krwi oraz wyciągów z tkanek zwierząt niższych.

Już pierwsze wyniki doświadczeń naszych z krwią żaby płowej (*Rana temporaria*) okazały się bardzo interesujące. Stwierdziliśmy mianowicie, że krew i surowica tej żaby posiada w wysokim stopniu własności rzęsistkobójcze, niszczy bowiem *in vitro* rzęsistka całkowicie w przeciągu 2—3 minut. Wyciągi z mięśni, wątroby i jaj żaby działają o wiele słabiej na rzęsistka aniżeli surowica lub krew.

Sprawdzając nasze doświadczenia nad działaniem krwi i surowicy żaby płowej na rzęsistka spotkaliśmy się z bardzo ciekawym zjawiskiem biologicznym, że niektóre surowice tego gatunku żaby działają słabiej antybiotycznie i litycznie, inne zaś nie mają zupełnie właściwości antybiotycznych.

Podobnie mieszanina surowic, wzięta od kilku żab, nie wykazuje właściwości antybiotycznych.

Przyjmujemy za tym tymczasowo, aż do czasu przeprowadzenia dokładniejszej analizy krwi płazów i gadów, że:

1. może zachodzić różnica osobnicza w działaniu surowic wziętych od poszczególnych osobników (różnica „quasi“ grupowa),
2. różnica ta może być związana z wiekiem poszczególnych osobników i stąd pochodzi zwiększenie toksyczności surowicy wziętej od osobników starszych,
3. zmieszanie kilku surowic, pochodzących od różnych osobników, unieczynnia właściwości toksyczne surowic antybiotycznie wybitnie czynnych.

Bardzo silne działanie rzęsistkobójcze posiada surowica węża zaskrońca (*Tropidonotus natrix*), która zabija rzęsistka w ciągu 2 minut, słabe natomiast działanie rzęsistkobójcze wykazuje:

surowica i wyciąg ze skóry ropuchy (*Bufo viridis*); (śmierć aglomeratów rzęsistka następuje po 30—50 minutach),  
surowica: jaszczurki zwinki (*Lacerta agilis*),  
padalca (*Anguis fragilis*),  
salamandry plamistej (*Salamandra salamandra*),  
traszki mniejszej (*Molge vulgaris*),  
szczupaka (*Esox lucius*),  
węgorza (*Anguilla anguilla*),



karpia (*Cyprinus carpio*),  
wyciąg wodny szczężui (*Anodonta cygnea*),  
pająka krzyżaka (*Araneus diadematus*) i  
dżdżownicy ziemnej (*Lumbricus terrestris*).

Nieodwracalną aglutynację, utrzymującą się, jak stwierdziliśmy, po 24 godzinach, wywołuje surowica żółwia (*Testudo graeca*), surowica ropuchy (*Bufo viridis*) i surowica padalca (*Anguis fragilis*).

Należy tu zwrócić uwagę na ciekawe, ale z punktu widzenia filogenezy niezrozumiałe, zjawisko swoistej wrażliwości rzęsistka na działanie surowicy żaby i węża zaskrońca, a brak tej wrażliwości w tym samym stopniu wobec surowic innych zwierząt i to zarówno ssaków jak i niższych kręgowców.

Świadczyłyby to m. in. o dość wybitnych różnicach we krwi zwierząt zimnokrwistych i w związku z tym nasuwałoby się ewentualne zagadnienie dalszego przebadania grupowości krwi u zwierząt zimnokrwistych.

Powyższe zjawisko swoistej wrażliwości wobec pewnych substancji roślinnych, czy surowic zaobserwowaliśmy nie tylko u rzęsistka, lecz również u pierwotniaków wolnożyjących.

Tak np. rozpad ziarnisty *Spirostomum ambiguum* jest powodowany przez surowice gawrona, węgorza, karpia, żółwia, żaby, ropuchy, salamandry i padalca, natomiast nie wywołuje rozpadu tego pierwotniaka surowica węża zaskrońca, jakkolwiek zabija ona *Spirostomum* w ciągu kilku minut, zaś surowica jaszczurki nie działa w ogóle na *Spirostomum* ani litycznie, ani zabójczo.

Również niektóre substancje pochodzące ze świata roślinnego, jak np. sok cebuli i szereg innych, działają litycznie na *Spirostomum*, nie działa zaś litycznie sok jagód jarzębiny (*Sorbus aucuparia* L.), jakkolwiek jest on dla tego pierwotnika gwałtowną trucizną i zabija go w ciągu sekundy, co można tłumaczyć bardzo szybkim działaniem trującym.

Przykładem niejednakowej wrażliwości gatunkowej na działanie jednej i tej samej substancji roślinnej może być reakcja pantofelka i rzęsistka na działanie wyciągu wodnego z suszonych borówek czernic (*Vaccinium myrtillorum* L.); wyciąg powyższych jagód zabija pantofelka w ciągu 1 sekundy, rzęsistek zaś ginie dopiero po upływie około 40 minut. Podobnie wyciąg z grzyba pieprznika jadalnego (*Cantharellus cibarius* Fr.) zabija pantofelka w ciągu 3 minut, rzęsistka zaś dopiero po godzinie. Strychnina (*Strychninum nitricum*

0,05 w 5 ml wody) wywołuje w ciągu 1 minuty lizę pantofelka, na rzesistka zaś prawie zupełnie nie działa.

Uzupełniając nasze obserwacje porównawcze w stosunku do rzesistka, można wspomnieć jeszcze o innych zaobserwowanych przez nas zjawiskach, które świadczą o różnorodnych formach reakcji komórki pierwotniaczej na działanie pewnych wyciągów roślinnych.

Tak np., badając działanie różnych wyciągów roślinnych na pantofelka, zaobserwowaliśmy ciekawe zjawisko śmierci pozornej (tj. letargu) pantofelka. Jeżeli dodamy do kultury pantofelków kroplę wyciągu wodnego z 3 dniowej maceracji pieprznika jadalnego (*Cantharellus cibarius* Fr.), to zauważymy początkowo przyspieszenie ruchu postępowego pantofelków oraz szybki ruch naokoło krótkiej osi ciała, następnie zwolnienie ruchów i w końcu pełne porażenie ruchowe wszystkich pierwotników po upływie około 3 minut, przy czym kształt ich pozostaje niezmieniony. Po ponownym dodaniu wyciągu pieprznika do pozornie martwych pierwotniaków, część ich ulega ożywieniu i wykazuje normalny ruch, który po pewnym czasie znowu zanika i następuje śmierć rzeczywista. Podobne właściwości jak pieprznik jadalny posiada wyciąg wodny z żarnowca miotlastego.

Na wzmiankę zasługuje także charakterystyczne zjawisko zmiany kierunku ruchu postępowego pod wpływem substancji trujących, zaobserwowane u *Spirostomum*. Ruch postępowy *Spirostomum* w warunkach normalnych, fizjologicznych odbywa się w ten sposób, że pierwotniak ten posuwa się naprzód zawsze przednim „dogłowym” końcem komórki, wypełnionym protoplazmą, a nigdy końcem tylnym, w którym mieści się duża wodniczka. Z chwilą dodania do kropli kultury *Spirostomum* jakiejkolwiek substancji, działającej szkodliwie na *Spirostomum* (nawet płynu fizjologicznego), zmienia się natychmiast kierunek ruchu komórki pierwotniaczej na wsteczny, to znaczy pierwotniak posuwa się naprzód tylnym końcem zaopatrzonym w wodniczkę. Tego rodzaju zjawisko zmiany ruchu postępowego na ruch wsteczny, tj. inwersję ruchu, wywołują u *Spirostomum* wszystkie badane przez nas substancje z wyjątkiem kodeiny, która nie powoduje tego zjawiska. U pantofelka zjawisko wyraźnej inwersji ruchu spotyka się rzadko. Inwersję ruchu zauważyliśmy tylko w jednym przypadku, a mianowicie po zadziałaniu na pantofelka wyciągiem wodnym piołunu.

Do zjawisk, świadczących o różnorodnym reagowaniu pierwotniaków na działanie identycznych substancji, zaliczyć można również zjawisko niejednakowo przebiegającego procesu rozpadu komórki



*Spirostomum*. Niektóre substancje powodują rozpad ziarnisty, który rozpoczyna się od części przedniej (cytostomum) komórki, działanie zaś innych substancji wywołuje początkowo rozpad w tylnym końcu komórki gdzie mieści się wodniczka.

Omówione wyżej spostrzeżenia przemawiają za słusnością poglądu, że jedna i ta sama substancja może działać w różny sposób na rozmaite gatunki pierwotniaków. Zapatrywanie takie podziela między innymi Tokini inni uczeni radzieccy, którzy podjęli systematyczne badania nad działaniem na pierwotniaki i inne drobno-ustroje prastarych leków stosowanych w lecznictwie ludowym. Wyrażają oni pogląd, że nieuzasadnione jest twierdzenie niektórych badaczy o „monotonnym reagowaniu“ organizmów jednokomórkowych na działanie szkodliwych czynników.

Poniżej podajemy zestawienie porównawcze, określające stopień wrażliwości rzęsistka bydlęcego i pierwotniaków wolnożyjących na działanie substancji roślinnych i innych przez nas przebadanych.

### Wnioski

1. Jak dotychczas nie ma ani ogólnie skutecznej, ani zadowalającej metody leczenia plagi rzęsistka bydlęcego mimo olbrzymiej literatury odnoszącej się do tego zagadnienia, a także różnorodności zalecanych i stosowanych środków.

2. Spośród 30 gatunków roślin, zbadanych dotychczas przez autorów, 23 gatunki wykazują działanie antybiotyczne (zabójcze) na rzęsistka bydlęcego.

3. Zabójczo na rzęsistka działają również surowice niektórych zwierząt niższych, w szczególności surowica żaby płowej (*Rana temporaria* L.) i węża zaskrońca (*Tropidonotus natrix* L.) oraz żółć ssaków, ptaków i ryb, malleina i ślina ludzka.

Należy przyjąć tymczasowo, aż do czasu przeprowadzenia dokładniejszej analizy krwi płazów i gadów, że:

a) może zachodzić różnica osobnicza w działaniu surowic wziętych od poszczególnych osobników (różnica „quasi“ grupowa),

b) różnica ta może być związana z wiekiem poszczególnych osobników i stąd pochodzi zwiększenie toksyczności surowicy wziętej od osobników starszych,

c) zmieszanie kilku surowic pochodzących od różnych osobników unieczynnia właściwości toksyczne surowic antybiotycznie wybitnie czynnych.

4. Normalna surowica gołębia wywołuje przejściową aglutynację rzęsistka (aglutynacja ustępuje po 24 godzinach).

Podobną własność wywoływania przejściowej aglutynacji posiada surowica królika, uodpornionego czterokrotnie kulturą rzęsistka w odstępach co 4 dni.

5. Toksyczność niektórych roślin dla rzęsistka, jak np. piołunu lub żarnowca, daje się zwiększyć przez dodanie do wyciągu roślinnego surowicy kaczki lub indyka. Oba składniki, tj. wyciąg roślinny i surowica, zmieszane z sobą, wykazują synergetyczne działanie zabójcze na rzęsistka.

6. Otrzymane dotychczas, zarówno przez autorów obcych jak i przez nas, surowice przeciw-rzęsistkowe wykazują zbyt małe miano lityczne, aby można je stosować praktycznie w leczeniu pozamiescowym trichomonazy. Przyczyną tego jest prawdopodobnie zbyt mała ilość antygeny wprowadzanego do ustroju w celu otrzymania wysokowartościowych lizyn względnie aglutynin.

7. Niektóre spośród badanych substancji np. wyciąg ze strączków i nasion żarnowca miotlastego (*Sarothamnus scoparius* L. W i m m), jaskółczego ziela (*Chelidonium maius* L.), skórki (pericarpium) dyni (*Cucurbita pepo* L.), piołunu (*Artemisia absinthium* L.), chinina, arekolina i chlorek karbaminoilcholine, powodują przyśpieszanie ruchu postępowego rzęsistka. Właściwość przyśpieszania ruchu rzęsistka przez powyższe substancje może być praktycznie wykorzystana w diagnozowaniu inwazji rzęsistkowych w przypadkach słabej ruchliwości lub małej ilości pasożytów w badanym materiale.

8. Formy młodociane rzęsistka są bardziej odporne na działanie ciał trujących dla rzęsistka, aniżeli formy dojrzałe, co może tłumaczyć trudności zwalczania zarażenia, szczególnie pasożytów bytujących w fałdach śluzówki pochwy, macicy lub napletka, trudno dostępnych dla penetracji wielu leków.

9. Wykonane badania porównawcze wykazały niejednakową wrażliwość wolnożyjących pierwotniaków i rzęsistków na działanie toksyczne substancji roślinnych i innych związków.

10. Zauważone przez nas różnice w działaniu krwi i surowic zwierząt niższych (zmiennocieplnych — a nawet wyższych) na różne gatunki pierwotniaków wolnożyjących i pasożytniczych mogą być wykorzystane jako pomocnicza metoda w wykrywaniu różnic serologicznych (grupowych) względnie innych ciał czynnych.



## L I T E R A T U R A

1. Aleksiejewa M. B. — Wlijanije niekotorych fitoncoidow na wlagaliszczenu trichomonadu. Nowosti Mediciny 34, 1953.
2. Tokin B. — Fitoncydy, 1953.
3. Morgan B. B. — Bovine Trichomoniasis, 1946.
4. Gedroyé M. — Les prototoxines préparées à l'aide des protozoaires vivant à l'état libre (infusoires ciliés) et leur importance au point de vue de la biologie générale. Compt. Rend. d. l. Soc. d. Biol. d. Paris, 1924 i Wyd. Akad. Med. Wet. Rozprawy Biologiczne, Lwów, 1924.

Adres autorów:

Zakład Farmakologii Wydz. Wet.  
Szkoły Głównej Gopćdarstwa Wiejskiego  
Warszawa, ul. Grochowska 272

Porównanie wrażliwości *Trichomonas foetus*, *Paramaecium caudatum* i *Spirostomum ambiguum* na działanie substancji roślinnych i innych

Porównanie wrażliwości <i>Trichomonas foetus</i> , <i>Paramaecium caudatum</i> i <i>Spirostomum ambiguum</i> na działanie substancji rozpuszczonych w wodzie										
Lp.	Substancja	<i>Trichomonas foetus</i> Riedmüller				<i>Paramaecium caudatum</i> L.			<i>Spirostomum ambiguum</i> L.	
		Działanie antybiotyczne silne + + + średn. + + słabe + brak —	Reakcja	Zmiany morfologiczne	Działanie antybiotyczne silne + + + średn. + + słabe + brak —	Reakcja	Zmiany morfologiczne	Działanie antybiotyczne silne + + + średn. + + słabe + brak —	Reakcja	Zmiany morfologiczne
1	Borówka czernica ( <i>Vaccinium myrtillus</i> L.)	+	Ruch rotacyjny wahadłowy	—	+++	Zahamowanie ruchu	—	+++	Skurcze	—
2	Pieprznik jadalny ( <i>Cantharellus cibarius</i> Fr.)	+	Ruch postępowy, przyspieszony	Kształt kulisty	+++	Przyspiesz. ruchu, ruch obrotowy naok. krótk. osł. ciała	—	+++	Ruch manewrowy	Kształt litery C
3	Bylica piołun ( <i>Artemisia absinthium</i> L.)	++	Ruch postępowy, przyspieszony, rotacyjny	Kształt kulisty	++	Inwersja ruchu	—	+	Ruch manewrowy	—
4	Dynia zwyczajna ( <i>Cucurbita pepo</i> L.)	++	Ruch postępowy, przyspieszony, manewrowy	Kształt kulisty	+++	Zahamowanie ruchu	—	+++	Skurcze i skoki	Napężnienie komórek
5	Muchomor plamisty ( <i>Amanita pantherina</i> D. C.)	—	Ruch zwolniony	—	+++	Ruch rotacyjny	—	+	Inwersja ruchu	Rozpad ziarnisty
6	Chmiel zwyczajny ( <i>Humulus lupulus</i> L.)	+	Ruch rotacyjny wahadłowy	Kształt kulisty	+	Zwolnienie ruchu	—	—	Inwersja ruchu	—
7	Jaskółcze zielenie ( <i>Chelidonium majus</i> L.)	+++	Ruch postępowy, przyspieszony	Kształt kulisty	++	Ruch rotacyjny	—	—	—	—
8	Zarnowiec miotłasty ( <i>Sarothamnus scoparius</i> L. Wilm.)	+++	Ruch postępowy, przyspieszony	—	+++	Ruch przyspieszony	Kształt maczugowaty	—	Inwersja ruchu	—



9	Jarzębina ( <i>Sorbus aucuparia</i> L.)	+	Ruch rotac. wahadłowy	Kształt kulisty	++	Ruch zaha- mowany	—	+++	Inwersja ruchu	Napęzn. komórek
10	Czubalka kania ( <i>Lepiota procera</i> Scop. F. r.)	+	—	Kształt kulisty	+++	Ruch przy- śpieszony	—	+++	Ruch „skokami”	Napęzn. komórek
11	Surowica żaby płowej ( <i>Rana temporaria</i> L.)	+++	—	liza	+	—	—	+	Ruch rotacyjny	Rozpad ziarnisty
12	Surowica żółwia ( <i>Testudo graeca</i> L.)	+	—	—	+++	—	—	+	Ruch rotacyjny	Rozpad ziarnisty
13	Surowica węża zaskrońca ( <i>Tropidonotus natrix</i> )	+++	—	—	+++	—	—	+++	Ruch rotacyjny	—
14	Surowica ropuchy ( <i>Bufo viridis</i> )	+	—	—	+++	—	—	+	Ruch rotacyjny	Rozpad ziarnisty
15	Surowica padalca ( <i>Anguis fragilis</i> )	+	—	—	—	—	—	+	Ruch rotacyjny	Rozpad ziarnisty
16	Surowica karpia ( <i>Cyprinus carpio</i> L.)	+	—	—	+++	Ruch postę- powy, zaha- mowany	—	+++	—	Rozpad ziarnisty
17	Surowica jaszczurki zwinkli ( <i>Lacerta agilis</i> )	+	—	—	+	—	—	—	—	—
18	Surowica salamandry ( <i>Salamandra salamandra</i> )	+	—	—	+	—	—	+	—	Rozpad ziarnisty
19	Surowica węgorza ( <i>Anguilla anguilla</i> )	+	—	—	+++	—	—	+++	—	Rozpad ziarnisty
20	Surowica tiaszki mniejszej ( <i>Molge vulgaris</i> )	+	—	—	+	—	—	+	—	—
21	Zółć karpia ( <i>Cyprinus carpio</i> L.)	+++	—	—	+++	Ruch zaha- mowany	Rozpad ziarnisty	+++	—	Rozpad ziarnisty
22	Styrcyninum nitricum (0,05 w 5 ml wody)	+	Ruch rota- cyjny, wa- hadłowy	Kształt zachowany	+++	Ruch zaha- mowany	Rozpad ziarnisty	+++	—	Rozpad ziarnisty

## РЕЗЮМЕ

До сих пор все попытки лечения заболеваний, вызванных трихомонадами базировали борьбу с этим паразитом главным образом на широко известных средствах в первом ряду химиотерапевтических. Однако все применяемые средства и методы лечения, не исключая серологического, оказались недостаточно эффективными. Надо учесть, что многие антибиотики растительного происхождения действуют не только бактериостатически но и бактерицидно и таким же образом могут действовать на трихомонады. Несомненно существуют вещества растительного происхождения действующие трихомонацидно.

Задачей было определить восприимчивость трихомонад рогатого скота на соки, вытяжки и препараты из некоторых растений, а затем определить терапевтическую пригодность веществ обладающих самой большой антибиотической активностью для трихомонад находящихся вне организма.

В связи с попытками многих исследователей получить вакцины или противотрихомонадные сыворотки, мы собрали и пополнили данные относительно серотерапии трихомоноз. Особенно мы пытались найти не содержат ли некоторые вытяжки из тканей и органов животных, напр. слизистой оболочки матки, пищеварительного тракта, поджелудочной железы, печени, слюнных желез, активные вещества действующие цитостатически или литически на трихомонады. Кроме того мы старались определить как действуют на трихомонады вытяжки из тканей, желёз и крови (сыворотка и гемолизаты) низших термолабильных животных.

В опытах *ин vitro* к противотрихомонадным антибиотикам мы зачислили вещества вызывающие гибель трихомонад в течении от 1 до 30 минут. Сравнивалось восприимчивость свободноживущих простейших *Spirostomum ambiguum* и *Paramaecium caudatum* и простейших патогенных именно трихомонад, к некоторым антибиотикам. Результаты исследований следующие: сок лука обыкновенного, изготовленный из растертых луковиц (рН около 5,5) прибавленный к густой культуре трихомад (1:1) вызывает в препаратах под микроскопом гибель всех трихомонад в тече-



нии 1 — 3 минут. Прокипяченный и профильтрованный сок обладает уже более слабыми антибиотическими свойствами чем сырой, вызывая гибель трихомонад в течении 4 — 6 минут. Физиопатологические изменения проявляются кинетическими расстройствами и изменениями структуры трихомонад. Молодые формы трихомонад, даже в неблагоприятных условиях, сохраняют живучесть дольше чем формы зрелые.

Одновременно с применением луковичного сока к лечению трихомоноз, исследовано токсичность кипячёного луковичного сока для мышей, кроликов и собак. Оказалось что он практически для этих животных не токсичен. Подкожная инъекция 0,5 мл сока мышам и 2 мл собакам и кроликам не вызывает у них никаких изменений ни воспаления тканей. Инъекция в полость сердца 40 мл стерильного сока двум подопытным собакам весом в 12 и 14 кг не вызвала у них никаких симптомов отравления. Опыт лечения прокипячённым соком лука двух коров в Гинекологической Клинике Ветфакультета в Варшаве дал положительные результаты. Однако ограниченное число случаев не позволяет еще на выводы о практической терапевтической ценности этих средств.

Сок чеснока оказывает *ин витро* сильное антибиотическое действие на культуры трихомонад, вызывая их гибель в течении 1 — 3 минут. Большинство исследованных веществ обладает свойством торможения поступательных движений трихомонад.

Наблюдалось различие в поведении и реакции подопытных простейших после воздействия тех же токсических веществ. Например выступило интересное явление зернистого распада *Spirostomum*, происходящего эксплозивно в течении нескольких секунд, после действия водной вытяжки из мухомора. Вытяжка из мухомора вызывает гибель *Paramaecium* в течении 1 — 2 минут, однако без зернистого распада, также как у трихомонад. Зернистое распадение *Spirostomum* вызывает также сок лука и чеснока. Таким же образом реагирует *Spirostomum* на отравление дикумаролом и иными веществами. Кодеин действует как взрывчатое вещество, разрывая клетки *Spirostomum* на мелкие части.

Опыт с сыворотками теплокровных животных (коровы, лошади, свиньи, кошки и птиц) подтвердили наблюдения Моргана, Робертсона и др., которые доказали, что свежие сыворотки этих животных применяемые в различных разведениях, напр. сыворотка кролика в разведении 1:12, 1:16 и 1:24, действуют литически и вызывают гибель трихомонад.

Кроме того констатировано что человеческая слюна обладает сильно выраженным свойством трихомоноцидным, вызывая их гибель в течении 1 — 3 минут. Подобными свойствами обладает желчь различных животных, рыб, птиц и млекопитающих вызывая гибель трихомонад в течении нескольких секунд.

Исследуя действие на трихомонады гемолизатов теплокровных животных и вытяжек из слизистой оболочки кишек, мы пришли к заключению, что клетки крови и эпителий слизистой оболочки не содержат антител и иных субстанции действующих антибиотически на трихомонады.

В исследованиях с сывороткой кроликов, которым инъецировано под кожу четыре раза, с четырехдневными интервалами, по 1 мл густой культуры трихомонад, наблюдалось появление временной аглютинации. После смешения на предметном стекле капли культуры трихомонад с каплей сыворотки кролика, в течении одной минуты выступала аглютинация, которая удерживалась в течении нескольких часов.

#### Опыты с кровью и сывороткой низших животных.

Проводя эти опыты и контролируя литературные данные, мы исследовали влияние на трихомонады сывороток, крови и вытяжек из тканей низших животных. В опытах с кровью лягушек замечено, что некоторые лягушечие сыворотки вообще не обладают ни антибиотическими, ни литическими свойствами, некоторые однако обладают этими свойствами но выраженными очень слабо. Замечено интересное, с филогенетической точки зрения не выясненное, явление специфической восприимчивости к сыворотке лягушек и ужа и отсутствие восприимчивости к сывороткам млекопитающих и низших животных. Указывалобы это на существование значительных разниц между свойствами крови различных теплокровных животных. В связи с этим возникает возможность дифференцировать группы крови и активные вещества находящиеся в крови термолабильных животных при помощи простейших.

Специфическая восприимчивость к некоторым веществам растительного происхождения и сывороткам наблюдается не только у трихомонад, но и у свободно живущих простейших. Так напр. зернистое распадение *Spirostomum ambiguum* вызывает сыворотка грача, угря, карпа, черепахи, лягушки, жабы, саламандры и веретенницы, а не вызывает сыворотка ужа, которая однако вы-



зывает гибель *Spirostomum* в течении нескольких минут, а сыворотка ящерицы не действует на *Spirostomum* ни цитотоксически, ни цитолитически.

Эти данные подтверждают мнение, что одни и те же вещества могут действовать различным образом на разные виды простейших.

### З а к л ю ч е н и е

1. Из 30 видов исследованных растений, 23 вида обладали антибиотическими свойствами в отношении трихомонад скота, вызывая их гибель.

2. Гибель трихомонад вызывают сыворотки некоторых низших животных, особенно лягушек, ужа, а также желчь млекопитающих, птиц и рыб, маллеин и человеческая слюна.

3. Пока не будет исследована более тщательно кровь рептилий и амфибий приходится принять, что: а) возможно существование индивидуальных разниц в свойствах сывороток разных особей, б) эти разницы могут зависеть от возраста, в) после смешения нескольких сывороток обладающих значительной антибиотической активностью, происходящих от разных особей, токсические свойства сывороток инактивируются (напр. у лягушек).

4. Нормальная сыворотка голубя и иных птиц вызывает временную агглютинацию трихомонад, уступающую в течении 24 часов. Временную агглютинацию может вызвать сыворотка кролика иммунизированного культурой трихомонад.

5. Токсические свойства некоторых растений в отношении трихомонад можно усилить прибавляя к водной вытяжке из полыни или метельника сыворотку утки или индейки. Токсические свойства компонентов, т. е. растительной вытяжки и сыворотки после смешивания синергически усиливаются.

6. Полученные до сих пор противотрихомонадные сыворотки обладают слишком низким литическим титром и поэтому не могут применяться в практике лечения трихомоноз. Причиной низкого титра могут быть слишком небольшие dávки антигена вводимые в организм с целью получить высококачественные лизины или агглютинины.

7. Некоторые из исследованных веществ напр. вытяжка из стручков и семян метельника, хинин, ареколин, лентин усиливают поступательные движения трихомонад. Это свойство можно изыскать

в практике для диагностики трихомонад если они слишком мало подвижны и находятся в исследуемом материале в небольших количествах.

8. Молодые трихомонады более резистентны на действие токсических веществ чем зрелые, что и выясняет затруднительность борьбы с инвазией.

9. Обнаружено не одинаковую восприимчивость простейших — свободноживущих и трихомонад к многим токсическим веществам растительным и некоторым сывороткам.

10. Замеченные различия в реакции свободноживущих простейших на действие крови и сыворотки низших и высших животных, могут быть использованы как вспомогательные методы для исследования серологических различий и иных свойств активных веществ.



## SUMMARY

Numerous endeavours towards solution of the problem of treatment of the diseases caused by *Trichomonas foetus* Riedmüller have thus far been limited chiefly to the use of known drugs, in the first instance hemotherapeutics.

Medicines and methods applied until now in the treatment of trichomoniasis — including serological methods — did not prove to be sufficiently effective.

Worthy of notice referring the subject discussed is the fact that a series of antibiotics of plant origin shows not only bacteriocidic or bacteriostatic properties but control the protozoa as well. There seems to be no doubt as to the existence of substances of plant origin that develop deadly action on *Trichomonas foetus*.

The task of the authors was to define the susceptibility of *Trichomonas foetus* on action of juices, extracts and products of certain plants, and in the next phase of work to establish the effectiveness — in the treatment in vivo — of those substances which show the highest antibiotic activity in their action on *Trichomonas* in vitro. Referring the trials numerous investigators have undertaken in order to prepare vaccines or serums against *Trichomonas*, the authors decided to extend the field of investigations as to collect and supplement the data with regard to serotherapy of trichomoniasis. They wanted to state particularly whether any extracts of animal tissues or glands such as the mucous membrane of the uterus and alimentary tract, pancreas, liver, salivary glands and others do not contain any active bodies exercising cytostatic or lytic action upon *Trichomonas*.

The authors tried to establish the action on *Trichomonas* of the extracts of tissues and glands of lower animals (poikilothermous) and of blood of these animals (serum and hemolysates).

On the basis of experiments the authors have carried out in vitro, to the group of antibiotics against *Trichomonas* were included all the substances that caused absolute death of *Trichomonas* within 1 to 30 minutes.

There have also been made observations referring the susceptibility of free living protozoa *Spirostomum ambiguum* L. and *Paramecium caudatum* L. on the action of some antibiotic compounds in order to compare the susceptibility of these protozoa, with that of *Trichomonas* as pathogenic protozoa. In the course of investigations carried out on the behaviour of *Trichomonas* in the presence of plant substances the results obtained are as follows:

Onion juice (*Allium cepa* L.) freshly prepared from grind onions (pH ca 5,5) added to the dense culture of *Trichomonas* in the ratio 1:1 caused death of all *Trichomonas* within 1—3 minutes, as seen in microscopic preparation.

Onion juice boiled and filtered showed antibiotic activity slightly weaker than did raw juice. Death of *Trichomonas* occurred within 4 to 6 minutes.

The pathological changes observed by the authors manifested in kinetic disturbances and structural changes of the protoplasm.

Young forms of *Trichomonas* maintained their viability much longer than did mature ones, showed greater immunity and viability.

As to the problem of use of onion juice in the treatment of trichomonosis infection the authors experimented upon toxicity of boiled onion juice on mice, rabbits and dogs. On the basis of these observations the authors came to the conclusion that onion juice was practically nontoxic for these animals.

When administered subcutaneously (0,5 ml for mice; 2 ml for dogs and rabbits) the juice did not cause inflammatory changes neither did irritate the tissues.

In experiment accomplished on 2 dogs, a 40 ml dose of sterile onion juice introduced into the heart of each animal weighing 14 and 12 kg respectively have neither caused any serious disturbances nor any symptoms of poisoning.

The trial of treatment of *Trichomonas* in vivo with boiled onion juice carried on few animals in Obstetric Clinic of the Veterinary Faculty in Warsaw, in two cows have shown successful and encouraging results. Nevertheless small number of tests do not allow to draw any definite conclusions as to the practical value of this remedy.

Garlic juice (*Allium sativum* L.) in vitro was found to exercise very energetic antibiotic action on *Trichomonas* culture. The latter perished when kept in the presence of garlic juice for 1 to 3 minutes.



Similar action to that of onion and garlic exercised on *Trichomonas* water extracts of many other plants investigated by the authors; only bacteriocidal plants were taken into account.

Most of the substances investigated have manifested ability of checking or hampering the progressive motion of *Trichomonas*.

The authors have found differences in behaviour and reaction of used protozoa with the same poison, and thus they were able to observe a phenomenon of granular desintegration of *Spirostomum* occurring explosively in a few seconds in the presense of aqueous extract of *Amanita pantherina* D. C. The same extract caused death of *Paramaecium* after 1 to 2 minutes without causing granular desintegration — likewise as in case of *Trichomonas*.

Quick granular desintegration of *Spirostomum* (within several seconds) followed the use of onion and garlic juices (1 to 2 minutes).

*Spirostomum* reacted similarly on poisoning with dicumarol and several other substances. The action of codeine was so strong that it tore *Spirostomum* cell like an explosive material scattering the remnants.

The investigations carried out with serums of homoeothermous animals (cows, horses, pigs, cats and birds) largely confirmed the observation of Morgan, Robertson and others. The latter have shown that fresh serums of warm blooded animals administered in different dilutions i. e. serum of a rabbit in dilution 1:12, 1:16, 1:24 exercised a fatal and lytic action on *Trichomonas*.

In experiments with rabbits' serum the authors observed appearance of temporary agglutination in animals that were dosed 1 cc of dense culture 4 times every 4 days; after mixing on a slide a drop of *Trichomonas* culture with one of rabbit serum, agglutination was noticed after 1 minute and persisted for several hours.

Human saliva was found to be a strong remedy against *Trichomonas*, as it destroyed the *Protozoa* in 1 to 3 minutes; the same was found to be true for bile of different animals such as fish, birds and mammals; it killed *Trichomonas* even in a few seconds.

The investigations carried out by the authors on the action of hemolysates of warm blooded animals, and that of mucous membrane of the intestine and uterus on *Trichomonas* did not thus far confirm the authors' anticipations as to the presense — in blood corpuscles and epithelial cells of mucous membrane — of antibodies exercising an antibiotic action on *Trichomonas*.

## Action of blood and serum of lower animals

With regard to the above observations that had in part to control and supplement the perceptions found in literature the authors have undertaken a series of experiments on the action of serum, blood and tissue extracts derived from tissues of lower animals.

The serum of *Tropidonotus natrix* was found to possess very strong trichomonascidic action; it was able to kill *Trichomonas* in 2 minutes. Much weaker trichomonascidic activity showed sera and extract of the skin of toad (*Bufo viridis*): death of the agglomerates of *Trichomonas* occurred after 30 to 50 minutes; serum of a lizard (*Lacerta agilis*); that of adder (*Anguis fragilis*); of salamander (*Salamandra salamandra*); that of *Molge vulgaris*; further the sera of fish-pike (*Esox lucius*), eel (*Anguilla anguilla*), carp (*Cyprinus carpio* L.), aqueous extract of *Anodonta cygnea*, that of spider *Araneus diadematus*, and of earth-worm (*Lumbricus terrestris*).

Worthy of notice, though obscure from the point of view of filogenetics is the phenomenon of individual susceptibility of *Trichomonas* to the action of the serum of toad and that of *Tropidonotus natrix* and on the other hand lack of this susceptibility to sera of other animals, both of mammals and lower animals as well.

This observation allows to suggest the presence of fairly marked differences in blood of poikilothermous animals, and sets the problem of detection of group differences or active bodies in these animals by the means of protozoan test.

The phenomenon of individual susceptibility to sera was noted not only in *Trichomonas*, but in free-living protozoa as well.

Thus v. e. granular desintegration of *Spirostomum ambiguum* was effected by serum of rook, eel, carp, tortoise, frog, toad, salamander and adder, however desintegration of protozoa was not effected by the serum of *Tropidonotus natrix* though it killed *Spirostomum* in several minutes, while serum of lizard did not develop any action on *Spirostomum* neither lytic nor killing one.

The above discussed observations confirm the opinion that the same substance may act in different way on different protozoa.

## Conclusions

1. 23 out of 30 plants investigated thus far by the authors showed antibiotic activity on *Trichomonas foetus*.



2. Killing effect on *Trichomonas* exercise also sera of some lower animals — particularly that of *Rana temporaria* L. and *Tropidonotus natrix* L. also bile of mammals, birds and fish; mallein and human saliva.

3. Before the precise analysis of blood of reptiles and amphibians is accomplished the authors provisionally assume that:

a) individual difference sometimes occurs in the action of sera derived from particular individuals („quasi“-group difference),

b) this difference may depend on age of particular individuals, hence results an increased toxicity of serum recovered from older individuals,

c) mixture of several sera originating from different individuals neutralises toxic properties of sera markedly active as antibiotics (i. e. in *Rana temporaria*).

4. Normal serum of pigeon or of other birds effects temporary agglutination of *Trichomonas* (the former occurs at the outmost after 24 hours). Similar property of causing temporary agglutination showed serum of rabbit immunized 4 times with *Trichomonas* culture in 4 days intervals.

5. Toxicity of certain plants on *Trichomonas* i. e. that of absynthe or *Sarothamnus scoparius* L. (W i m m) may get increased following addition of serum of a duck or turkey to the plant extract. Both ingredients namely plant extract and serum develop after mixing synergetic killing action on *Trichomonas*.

6. Antitrichomonas sera prepared thus far by the authors, and by other investigators show too small lytic titre in order that they might be used in practice for the treatment of trichomoniasis other than local. This is probably due to inadequate amount of the antigen introduced into the body in order to get lysins or agglutinins of high quality.

7. Some of the substances examined i. e. the extract of pods and seeds of *Sarothamnus scoparius* L. (W i m m) *Chelidonium majus* L., pericarpium *Cucurbita pepo* L., *Artemisia absinthium* L., chinine, arecoline and carbaminoilcholine chloride — cause acceleration of the progressive motion of *Trichomonas*. A practical use may be made of the last observation in diagnosis of *Trichomonas* infection in cases of weak mobility or too small number of parasites in the material under examination.

8. Young forms of *Trichomonas* are more immune against the action of poisons than the adult ones; this may explain difficulties



in controlling the infection, particularly of parasites living within the folds of mucous membrane of vagina, uterus or prepuce, which make access to drug penetration difficult.

9. Comparative investigations have shown the susceptibility of free living protozoa and that of *Trichomonas* to be non equal to toxic action of plant substances and other compounds.

10. The observations referring the differences in the influence of blood and serum of lower animals (poikilothermous and even higher ones) on different species of free-living and parasitic protozoa may prove helpful as accessory method in detection of serologic differences (group differences) or other active bodies.